

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **2003-128561**

(43)Date of publication of application : **08.05.2003**

(51)Int.Cl.

**A61K 35/64**

**A61K 35/84**

**A61P 35/00**

**A61P 37/04**

**A61P 39/00**

**A61P 43/00**

(21)Application number : **2001-325095**

(71)Applicant : **ISHIKAWA TENNEN YAKKO  
BUSSHITSU KENKYU CENTER  
YAMAGUCHI NOBUO**

(22)Date of filing : **23.10.2001**

(72)Inventor : **YAMAGUCHI NOBUO**

### **(54) PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC AGENT FOR CANCER CONTAINING AGARICUS BLAZEI MURILL AND/OR PROPOLIS**

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide prophylactic and therapeutic agents containing Agaricus blazei murill and/or propolis, and to provide uses thereof.

**SOLUTION:** The prophylactic and therapeutic agents for cancers comprise the propolis and/or Agaricus blazei murill. An activator for an immunocompetent cell is provided.

### **LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

**19.10.2004**

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-128561

(P2003-128561A)

(43) 公開日 平成15年5月8日 (2003.5.8)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テコード <sup>*</sup> (参考)
A 6 1 K 35/64		A 6 1 K 35/64	4 C 0 8 7
35/84		35/84	A 4 C 0 8 8
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	
37/04		37/04	
39/00		39/00	
審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 8 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願2001-325095 (P2001-325095)	(71) 出願人	500451388 財団法人 石川天然薬効物質研究センター 石川県金沢市福島町ヌ108
(22) 出願日	平成13年10月23日 (2001.10.23)	(71) 出願人	599006498 山口 宣夫 石川県河北郡内灘町字大清水61番地
		(72) 発明者	山口 宣夫 石川県河北郡内灘町字大清水61番地
		(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔 (外2名)
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 アガリクス及び／又はプロボリスを含む癌の予防剤及び治療剤

(57) 【要約】

【課題】 アガリクス及びプロボリスの作用及び効果を科学的に解明し、その用途を提供すること。

【解決手段】 プロボリス及び／又はアガリクスを含むことを特徴とする癌の予防剤及び治療剤、並びに免疫担当細胞の活性化剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 プロボリス及びアガリクスを含むことを特徴とする癌の予防剤又は治療剤。

【請求項2】 プロボリス及びアガリクスを含むことを特徴とする免疫担当細胞の活性化剤。

【請求項3】 アガリクスを含むことを特徴とする癌の予防剤又は治療剤。

【請求項4】 アガリクスを含むことを特徴とする免疫担当細胞の活性化剤。

【請求項5】 プロボリスを含むことを特徴とする癌の予防剤又は治療剤。 10

【請求項6】 プロボリスを含むことを特徴とする免疫担当細胞の活性化剤。

【請求項7】 癌が、外因的な環境因子により引き起こされるものである請求項1、3又は5記載の予防剤又は治療剤。

【請求項8】 外因的な環境因子が、化学物質、紫外線、放射線、タバコ、ストレス、飲酒及び熱水飲料からなる群より選択される少なくとも1つである請求項7記載の予防剤又は治療剤。

【請求項9】 外因的な環境因子により引き起こされる癌が扁平上皮癌又は腺癌である請求項7又は8記載の予防剤又は治療剤。

【請求項10】 免疫担当細胞が齧歯動物又は哺乳動物のものである請求項2、4又は6記載の活性化剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、プロボリス及び／又はアガリクスを含む、癌の治療剤及び予防剤、並びに免疫担当細胞の活性化剤に関する。

【0002】

【従来の技術】アガリクス茸 (*Agaricus blazei murii* 1) は、担子菌類ハラタケ科に属し、多糖体を最も多く含むキノコであり、カワリハラタケとも呼ばれている。その多糖体は免疫細胞と関連のある物質として注目されているため、アガリクスは疲労回復や健康維持成分として期待されている。しかしながら、アガリクス菌糸体成分は、一般的には消化し難いことが知られており、従って、アガリクスがどのように体内に吸収され、どのような作用機序に基づいて生体内における種々の機能を発揮するかは未知であった。また、抗腫瘍作用を報告する非学術刊行物あるいは学術論文においてさえも、腫瘍対宿主の関係が同種異系の関係にある癌に関する研究が多く、その他のもの、例えば外因的な環境因子により引き起こされる癌などに関する学問的検討は皆無の状態である(尚、腫瘍対宿主の関係が同種同系でなく同種異系の場合には移植免疫が働き、免疫学的見地から厳密には自家腫瘍に対する特異的抗癌作用とは表記されない)。

【0003】また、プロボリスはハチが生成する粘性の樹脂様物質であり、現在は防腐剤や抗菌剤などに利用さ

れている。従来のプロボリス製剤、特に天然素材は一般的に消化し難いことが知られており、従って、体内吸収も未知の状態であった。また、民間レベルでは肝機能の改善などが示唆されているが、医学生物学的にプロボリスの作用を証明し、その作用機序を説明している文献は見当たらない。従って、アガリクス及び／又はプロボリスに関して、その作用又は効果を科学的に解明して、アガリクス及び／又はプロボリスの用途を開発することが望まれていた。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、アガリクス及びプロボリスの作用及び効果を宿主のリンパ球を利用して科学的に解明し、その用途を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、アガリクス又はプロボリスがそれぞれ宿主の免疫担当リンパ球を量的かつ質的に活性化し、それにより化学発癌物質による癌の発生を予防し、またそのような癌を治療できることを見出した。さらにアガリクス及びプロボリスの両方を配合した合剤には相加効果があることを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0006】すなわち、本発明は、プロボリス及び／又はアガリクスを含むことを特徴とする癌の予防剤又は治療剤である。ここで上記癌は、少なくとも1つの外因的な環境因子、例えば化学物質、紫外線、放射線、タバコ、ストレス、飲酒及び熱水飲料などにより引き起こされるものであり、限定するものではないが、扁平上皮癌又は腺癌などが挙げられる。また、本発明は、プロボリス及び／又はアガリクスを含むことを特徴とする免疫担当細胞の活性化剤である。ここで免疫担当細胞は、脊椎動物のものであればよく、例えば限定されるものではないが齧歯動物又は哺乳動物のものが挙げられる。

【0007】

【発明の実施の形態】以下、本発明をより詳細に説明する。本発明は、アガリクス及び／又はプロボリスの用途に係るものであり、アガリクス又はプロボリスがそれぞれ免疫担当細胞を量的かつ質的に活性化することを利用するものである。従って、アガリクス及び／又はプロボリスを摂取すると、免疫担当細胞が量的かつ質的に活性化されるため、特定の種類の癌を予防又は治療することができる。

【0008】本発明において使用するアガリクスは、アガリクス・ブラゼイ (*Agaricus blazei*) 科に属する子実体又は菌糸体であれば任意のものでよい。自然界に自生する標品でもよいし、又は人工的に培養した(タンク培養品でも可)標品でも使用可能である。アガリクスは、粗精製剤単独、又は主成分である多糖体を酵素処理により調製した製剤が市販されている。また、子実体を

微粒子に粉碎したものの他、熱水抽出し、凍結乾燥したものが市販されているが、それぞれ単独にて用いる場合が多い。

【0009】アガリクス粒子は、アガリクス菌糸体を超音波処理するか、又は発酵過程により分解することによって、体内へ吸収し易くすることが好ましい。超音波処理は、適当な超音波処理装置を用いて5～50分間程度行う。また、発酵過程により分解するには、酵母菌と共存させ40℃の環境下にて5～10日間の培養処理を行う。アガリクスはまた、純水、アブソリュートアルコール又は

これらの混合溶液により抽出することができる。  
【0010】本発明において使用するプロポリスは、Apis科に属するミツバチが生成する標品でありうる。また、他種のハチ（例えば、ヤマトミツバチ、スズメバチなど）の分泌物でもよく、また産地を限定するものではない。産地としては、日本、中国、東南アジア、ヨーロッパ、南北アメリカ、アフリカなどが挙げられるが、産地による格差はない。プロポリスは、自然界にて捕獲されるハチから作製した標品でもよいし、人為的に飼育したハチから作製した標品でもよい。さらに、上記標品に

分離又は抽出などの処理を施した加工標品を用いてもよい。  
【0011】プロポリスは、熱水抽出若しくはアルコール抽出するか、又は発酵過程により分解することによって体内へ吸収し易くすることが好ましい。例えば、熱水抽出物又はアルコール抽出物を使用することができる。熱水抽出及びアルコール抽出は、それぞれ50～100℃の熱水及び50%エタノール溶液により行う。またプロポリスの発酵過程による分解は、酵母菌と共存させ40℃の環境下にて5～10日間の培養により行う。

【0012】アガリクス又はプロポリスの成分により、免疫担当細胞の量的及び質的活性化を介して、生体内の特定の癌の発生予防又は治療が可能である。ここで免疫担当細胞とは、免疫の一連の反応に関与する細胞を指し、例えば、マクロファージ、T細胞、B細胞、NK細胞、好中球、単球、ランゲルハンス細胞などが含まれる。また「免疫担当細胞の量的及び質的活性化」とは、免疫担当細胞の量を増大させ（量的活性化）、そして免疫担当細胞の機能を増大させる（質的活性化）ことを意味する。

【0013】アガリクスが免疫担当細胞を量的かつ質的に活性化する作用機序は、アガリクスが補体経路を活性化して補体の機能、すなわちオプソニン化（食食亢進作用）、細胞活性化及び細胞溶解を引き起こすと共に、アガリクスと補体との反応によりアガリクス-補体複合体を形成させ、当該複合体により免疫担当細胞を活性化することである。

【0014】また、プロポリスが免疫担当細胞を量的かつ質的に活性化する作用機序は、補体の副経路の活性化を経て、免疫担当細胞を活性化する経路が示されている

(Activation of the Alternative complement pathway by Agaricus blazei Murill; Shoji SHIMIZU et al, PHYTOMEDICIN, 2001印刷中)。また、プロポリスのもう一つの主要な機構としては、プロポリスがマクロファージに貪食された後、マクロファージがIL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 等のサイトカインを分泌し、T細胞、B細胞、NK細胞及びNKT細胞を活性化することである。

【0015】従って、上述のように免疫担当細胞を量的かつ質的に活性化することにより、特定の癌の発生を予防したり、癌を治療したりすることができるし、また、アガリクス及び／又はプロポリスは、細菌、真菌、ウイルス、リケッチャ、クラミジアなどによる感染症の防御にも有効である。

【0016】本発明において予防又は治療の対象となる癌は、外因的な環境因子、例えば化学物質、紫外線、放射線、タバコ、ストレス、飲酒、熱水飲料等により引き起こされる各種臓器の癌の少なくとも1種であり、例えば扁平上皮癌及び腺癌が挙げられる。扁平上皮癌には、食道癌、口腔癌、顎癌、上咽頭癌、咽頭癌、大腸癌、直腸癌、肺癌、腎癌、膀胱癌、尿管癌などが含まれる。また、腺癌には、甲状腺癌、乳癌、胃癌、膵臓癌、子宮体癌、子宮頸癌、睾丸腫瘍、前立腺癌、卵管癌、陰癌などが含まれる。なお、単一の癌のみならず複数の癌が併発したものも含まれる。アガリクス及びプロポリスはそれぞれが上記のような作用を有するが、これらを合わせて、合剤として使用すると相加効果がある。相加効果とは、2つの物質の作用点が同一の場合に、その併用効果が個々の物質の代数和であることを指す。

【0017】上述したように、アガリクス及び／又はプロポリスは、免疫担当細胞を活性化させ、優れた癌予防作用及び治療作用を有することから、そのまま、又は医薬的に許容される担体又は添加物を含有する医薬組成物として使用しうる。このような担体は、固体担体又は液体担体のいずれでもよく、例えば、水、ゼラチン、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、ラクトース、アラビアゴム、植物油等が挙げられる。また添加物としては、例えば、乳化剤、安定剤、抗酸化剤等が挙げられる。使用される添加物は、医薬組成物の剤形に応じて上記の中から適宜又は組み合わせて選択される。

【0018】本発明のアガリクス及び／又はプロポリスの含有量は、特に限定されないが、組成物の0.001～20.0重量%、好ましくは、0.01～10.0重量%である。また、アガリクス及びプロポリスの両者を含有する合剤の場合には、その含有比率は1:1～2、1～2:1とすることができ、その範囲内であればアガリクス及びプロポリスの相加効果が同程度に保持される。アガリクス及び／又はプロポリスを医薬組成物として使用する場合に、該医薬組成物は経口的に投与することができる。

【0019】アガリクス及び／又はプロポリスを経口的に投与する場合は、医薬組成物をそれに適用される錠

剤、顆粒剤、散剤、丸剤などの固形剤形、あるいは液剤、シロップ剤などの液体製剤などとすればよい。特に顆粒剤及び散剤は、カプセル剤として単位投与剤形とすることができ、液体製剤の場合は、使用する際に再溶解させる乾燥組成物にしてもよい。

【0020】これらの剤形のうち経口用固形剤は、通常それらの組成物中に製剤上一般的に使用される結合剤、賦形剤、滑沢剤、崩壊剤、湿潤剤などの添加剤を含有する。また、経口用液体製剤は、通常それらの組成物中に製剤上一般的に使用される安定剤、緩衝剤、矯味剤、保存剤、芳香剤、着色剤などの添加剤を含有する。

【0021】また、その投与量は、投与対象の年齢、投与経路、投与回数により異なり、広範囲に変えることができる。例えば、アガリクス及び／又はプロポリスの有効量と適切な希釈剤及び薬理学的に使用しうる担体との組み合わせとして投与される有効量は、1日につき体重1kg当たり100mg〜5000mgであり、6時間から24時間の間隔で分割して投与される。

【0022】アガリクス及び／又はプロポリスを投与する対象は、ヒトの他、ウサギ、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリの他、食肉や皮革製品調達を目的とする動物等の家畜や、マウス、ラット、イヌ、ネコ等の愛玩動物であってもよい。また状況によっては野生動物の癌の予防剤又は治療剤としても有用である。アガリクス及び／又はプロポリスは、医薬組成物としての用途に限定されず、その他、例えば食品又は化粧品等に配合されてもよい。従って、アガリクス及び／又はプロポリスが配合された食品又は化粧品は、免疫担当細胞を活性化させ、癌を予防又は治療するための健康補助製品として有用である。

【0023】アガリクス及び／又はプロポリスを配合する食品としては、米飯類、菓子類、麺類、カマボコ・チクワ等の水産練り製品、ハム・ソーセージ等の畜肉加工品、清涼飲料・果実飲料等の飲料類、マヨネーズ・ドレッシング・味付け調味液等の調味料等が挙げられ、これらに限定はされない。食品に配合するアガリクス及び／又はプロポリスの量は、例えば1〜1000mg/kgであり、好ましくは500mg/kgである。

【0024】また、アガリクス及び／又はプロポリスを配合する化粧品としては、例えば、化粧水、乳液、クリーム、ファンデーション、洗顔料、ヘアケア製品（シャンプー、リンス、ヘアトリートメント）等を挙げることができる。これらの化粧品には、通常の化粧品に使用される界面活性剤、保湿剤、美白剤、紫外線吸収剤、香料、防腐剤等を適宜配合してもよい。化粧品に配合するアガリクス及び／又はプロポリスの量は、例えば0.1mg〜100mg/mlであり、好ましくは50mg/mlである。アガリクス及び／又はプロポリスは、免疫担当細胞の活性化剤として有用であり、また、そのような免疫担当細胞を活性化するという作用機序によって、外因的な環境因子に

より引き起こされる癌の予防又は治療、また感染症の防御に有効でもある。

【0025】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例にその技術的範囲が限定されるものではない。

【実施例1】アガリクスの調製

アガリクス1000gを、超音波処理（ミツミ電機社製のウルトラソニケーターを用いて20,000Hzで60分間処理）することにより調製した。実施例で用いたアガリクスは株式会社応微研製の標品である。

【0026】【実施例2】プロポリスの調製

プロポリスは、俗称西洋ミツバチ（*Apis mellifera*）を人為的に飼育した飼育種が産生するものより採取し、調製された株式会社応微研製のグリーンプロポリスを用いた。

【実施例3】アガリクス及びプロポリス合剤の調製  
実施例1及び2で調製したアガリクス及びプロポリスを、1:1の比率（重量比）で混合して合剤を調製した。

【0027】【実施例4】アガリクス投与による予防的及び治療的効果

体重250〜260gの雌Donryu ratに実施例1で調製したアガリクスを5%濃度で毎日摂取させ8ヶ月間継続投与した。また、癌の予防及び治療効果が報告されているクロレラ（市販品を5種類混合したもの）を同様に投与した。5%アガリクス又はクロレラ投与の1ヶ月後（予防的検討）又は1ヶ月前（治療的検討）に化学発癌物質を投与開始した。化学発癌物質としてAzoxymethane (AO M) を1回あたり20mg/kgで8ヶ月間にわたり1ヶ月に1度の頻度で7回皮下に投与した。このようにして化学発癌状況を設定した。1群20匹として、第1群は発癌対照群、第2群は非発癌対照群、第3群は発癌アガリクス投与群、第4群は非発癌アガリクス投与群、第5群は発癌クロレラ投与群、第6群は非発癌クロレラ投与群とした。

【0028】アガリクス又はクロレラ投与開始後9ヶ月目の初日にラットを屠殺、開腹し、胃噴門部より肛門開口までを摘出した。摘出した消化管を肉眼的に観察し、腫瘍部位を確認した。また、腫瘍部位はホルマリンにて固定し、組織切片を作製した。予防的検討に関しては、組織切片をヘマトキシリンとエオシンで染色して、宿主のリンパ球の集積状況と腫瘍発生率（表1）を観察した。また、治療的検討に関してはマウスの生存率を算出した（表2）。

【0029】表1及び表2の結果から、アガリクスの投与によって腫瘍発生率が低くなり（対照が92.8%、クロレラ投与が95.0%であるのに対し、アガリクス投与は46.0%）、また発癌後であってもアガリクスを投与することにより生存率が高くなる（対照が0%、クロレラ投与が5.0%であるのに対し、アガリクス投与は49.0%）

ことがわかる。

\*【表1】

【0030】予防的検討：マウスにおける腫瘍発生率 \*

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	腫瘍発生率 (%)
1)	+	—	92.8
2)	—	—	0
3)	+	5%アガリクス	46.0
4)	—	5%アガリクス	0
5)	+	5%クロレラ	95.0
6)	—	5%クロレラ	0

【0031】治療的検討：マウスの生存率

※ ※【表2】

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	AOM投与開始18ヶ月 後の生存率 (%)
1)	+	—	0
2)	—	—	97.0
3)	+	5%アガリクス	49.0
4)	—	5%アガリクス	96.4
5)	+	5%クロレラ	5.0
6)	—	5%クロレラ	86.5

【0032】〔実施例5〕プロボリス投与による予防的  
及び治療的効果

実施例2で調製したプロボリスに関して、予防的検討及  
び治療的検討を行った。実験動物、化学発癌物質、投与  
方法・期間、組織の観察は実施例4と同様に行ったが、  
投与する予防剤として5%プロボリス、10%プロボリス  
(予防的検討のみ)及び5%クロレラを使用した。

【0033】その結果、プロボリスの投与を受けたラッ★

★トの消化管には有意に少ない腫瘍の発生率が示された  
(表3)。またその発生率は投与量に反比例した。さら  
に、治療的検討(表4)では、発癌後であってもプロボ  
リスを投与することにより生存率が高くなる(対照が0  
%、クロレラ投与が5.0%であるのに対し、プロボリス  
投与は52.0%)ことがわかる。

【0034】予防的検討：マウスにおける腫瘍発生率

【表3】

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	腫瘍発生率 (%)
1)	+	—	92.8
2)	—	—	0
3)	+	5%プロボリス	40.0
4)	—	5%プロボリス	0
5)	+	10%プロボリス	37.0
6)	—	10%プロボリス	0
7)	+	5%クロレラ	95.0
8)	—	5%クロレラ	0

【0035】治療的検討：マウスの生存率

【表4】

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	AOM 投与開始 18 ヶ月 後の生存率 (%)
1)	+	—	0
2)	—	—	97.0
3)	+	5%プロボリス	52.0
4)	—	5%プロボリス	86.3
5)	+	5%クロレラ	5.0
6)	—	5%クロレラ	86.5

【0036】〔実施例6〕アガリクス及びプロボリス合剤の投与による予防的及び治療的效果

実施例3で調製したアガリクス及びプロボリス合剤に関して、予防的検討及び治療的検討を行った。実験動物、化学発癌物質、投与方法・期間、組織の観察は実施例4と同様に行ったが、投与する予防剤として5%アガリクスと5%プロボリスの合剤を使用した。

【0037】表5及び表6の結果から、アガリクス+プロボリス合剤の投与によって腫瘍発生率が低くなり（対照が92.8%であるのに対し、アガリクス+プロボリス合剤投与は34.0%）、また発癌後であってもアガリクス+プロボリスを投与することにより生存率が高くなる（対照が0%であるのに対し、アガリクス+プロボリス合剤 \*

\* 投与は68.0%）ことがわかる。さらに、実施例4のアガリクス投与及び実施例5のプロボリス投与と比較すると、腫瘍発生率は、5%アガリクス（46.0%）、5%プロボリス（40.0%）及び10%プロボリス（37.0%）であるのに対し、5%アガリクス+5%プロボリスは34.0%であり、アガリクスとプロボリスを併用することにより腫瘍発生率はさらに低くなった。また、治療的検討に関する生存率は、5%アガリクス（49.0%）及び5%プロボリス（52.0%）であるのに対し、5%アガリクス+5%プロボリスは68.0%であり、アガリクスとプロボリスを併用することにより生存率も高まることがわかった。

【0038】予防的検討：マウスにおける腫瘍発生率  
〔表5〕

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	腫瘍発生率 (%)
1)	+	—	92.8
2)	—	—	0
3)	+	5%アガリクス 5%プロボリス	34.0
4)	—	5%アガリクス 5%プロボリス	0

【0039】治療的検討：マウスの生存率

※ ※ 【表6】

群設定	発癌物質 AOM 投与	投与予防剤	AOM 投与開始 18 ヶ月 後の生存率 (%)
1)	+	—	0
2)	—	—	97.0
3)	+	5%アガリクス 5%プロボリス	68.0
4)	—	5%アガリクス 5%プロボリス	96.0

【0040】〔実施例7〕アガリクス又はプロボリスの免疫担当細胞の活性化

マウスにおいて、白血球数及び亜型の分布率を常法に従

い形態学的手法を用いて算出した。以下に処理、調製法を記す。最初に、各群10匹のマウスにマイトマイシン-C (MMC) を5mg/kg、更に5日後に3mg/kgで合計2回投与し



た。続いて、MMC処理後に、プロボリス又はアガリクスを1回当たり500mg/kgで1日おきに5回経口投与した。

【0041】白血球の亜群別分布率を測定するためにマウスを脱髓にて安楽死させた後、脾臓を摘出して採取した。細胞の洗浄及び調製には、10%FCS、2mMグルタミン、1mMビルビン酸ナトリウム、15mM HEPES、 $5 \times 10^{-5}$ M 2-メルカプトエタノール及び10%炭酸水素ナトリウムを水でpHを7.2に調整したものを使用した。採取した脾臓細胞の培養には、RPMI-1640培養液を使用した。その後、ろ過遠心法にて3回洗浄して、遊離脾臓細胞浮遊液

を得た。  
【0042】CD4、CD11などの亜群別の測定法に関しては、リンパ球の各グループが有する細胞表面に突出している特殊な構造(CD: cluster of differentiation)を利用して、各群のCD番号に対応するモノクローナル抗体に蛍光色素を結合させた試薬(Becton-Dickinson社製、\*

\*USA)を用いて該細胞を可視化して測定した。CD陽性細胞としてはCD4、CD11、CD19及びCD56を用い、上記B-D社製のFACS(Fluorescent activated cell sorter)にて蛍光保持細胞を測定した。

【0043】その結果を、表7に各群の平均蛍光保持細胞数を相対数(%)として示す。MMC対照群は、CD4、CD11、CD19及びCD56陽性細胞全般の相対数が低下した。しかし、MMC処理後、プロボリス又はアガリクスを投与した最終投与5日後の脾臓中には正常群と同等のCD4、CD11、CD19及びCD56陽性細胞が検出された。これらを総合すると、プロボリス又はアガリクスは、癌化学療法剤による後天的免疫不全状態を示す宿主の免疫担当細胞を活性化し、免疫能を正常化させることがわかる。

【0044】

【表7】

動物群	CD4-T細胞	CD11-食細胞	CD19-B細胞	CD56-NK細胞
正常群	28.3±5	6.3±0.9	42.1±5.4	28.5±3.4
MMC+対照群	19.6±4.2	4.4±1.0	24.6±6.3	19.9±4.2
MMC+プロボリス群	35.6±4.8	7.8±2.2	47.8±4.6	29.8±5.3
MMC+アガリクス群	32.2±5.1	7.8±2.6	54.6±6.8	27.5±4.9

表の数値は相対数(%)を示す。

【0045】

【発明の効果】本発明により、アガリクス及び／又はプロボリスを含む癌の予防剤及び治療剤、並びに免疫担当※

※細胞の活性化剤が提供される。本発明において、アガリクス及び／又はプロボリスは免疫担当細胞を活性化することから、特定の癌の予防及び治療に有用である。

【手続補正書】

【提出日】平成13年10月29日(2001.10.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

★【補正方法】変更

【補正内容】

【0044】

【表7】

★

動物群	CD4-T細胞	CD11-食細胞	CD19-B細胞	CD56-NK細胞
正常群	28.3±5.0	6.3±0.9	42.1±5.4	28.5±3.4
MMC+対照群	19.6±4.2	4.4±1.0	24.6±6.3	19.9±4.2
MMC+プロボリス群	35.6±4.8	7.8±2.2	47.8±4.6	29.8±5.3
MMC+アガリクス群	32.2±5.1	7.8±2.6	54.6±6.8	27.5±4.9

表の数値は相対数(%)を示す。

フロントページの続き

(S1)Int.Cl.<sup>7</sup>

A61P 43/00

識別記号

107

121

F I

A61P 43/00

107

121

ターコード(参考)

Fターム(参考) 4C087 AA01 AA02 B822 CA03 MA02  
NA14 ZB09 ZB22 ZB26 ZC75  
4C088 AA02 AC17 AD10 BA07 CA25  
MA02 NA14 ZB09 ZB22 ZB26  
ZC75